

## Bibliographic Fields

## Document Identity

(19)【発行国】

日本国特許庁(JP)

(12)【公報種別】

公開特許公報(A)

(11)【公開番号】

特開2002-322197(P2002-322197A)

(43)【公開日】

平成14年11月8日(2002.11.8)

## Public Availability

(43)【公開日】

平成14年11月8日(2002.11.8)

## Technical

(54)【発明の名称】

ペプチジルヒドロキサム酸誘導体およびその用途

(51)【国際特許分類第7版】

C07K 5/062

A61K 38/00

A61P 31/04

43/00 111

C12N 9/99

【FI】

C07K 5/062

A61P 31/04

43/00 111

C12N 9/99

A61K 37/02

【請求項の数】

7

【出願形態】

OL

【全頁数】

9

(19) [Publication Office]

Japan Patent Office (JP)

(12) [Kind of Document]

Unexamined Patent Publication (A)

(11) [Publication Number of Unexamined Application]

Japan Unexamined Patent Publication 2002- 322197 (P2002-322197A)

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

Heisei 14\*November 8\* (2002.11.8)

(43) [Publication Date of Unexamined Application]

Heisei 14\*November 8\* (2002.11.8)

(54) [Title of Invention]

**PEPTIDYL HYDROXAMIC ACID DERIVATIVE AND ITS APPLICATION**

(51) [International Patent Classification, 7th Edition]

C07K5/062

A61K38/00

A61P31 /04

43/00111

C12N9/99

【FI】

C07K5/062

A61P31 /04

43/00111

C12N9/99

A61K37/02

[Number of Claims]

7

[Form of Application]

OL

[Number of Pages in Document]

9

**JP2002322197A**

**2002-11-8**

**【テーマコード(参考)】**

4C0844H045

**【Fターム(参考)】**

4C084 AA03 AA07 BA14 CA59 MA35 MA  
66 NA14 ZB35 ZC20 4H045 AA10 AA30 B  
A11 DA55 EA29 FA31 FA51 GA40 HA32

**Filing**

**【審査請求】**

未請求

**(21)【出願番号】**

特願2001-125618(P2001-125618)

**(22)【出願日】**

平成13年4月24日(2001. 4. 24)

**Parties**

**Applicants**

**(71)【出願人】**

**【識別番号】**

000199175

**【氏名又は名称】**

千寿製薬株式会社

**【住所又は居所】**

大阪府大阪市中央区平野町2丁目5番8号

**Inventors**

**(72)【発明者】**

**【氏名】**

崔 応渉

**【住所又は居所】**

兵庫県神戸市須磨区白川台6丁目4番地の8  
608号

**(72)【発明者】**

**【氏名】**

井上 淳

**【住所又は居所】**

兵庫県神戸市須磨区白川字不計1番地の6 6  
03号

**(72)【発明者】**

[Theme Code (For Reference)]

4C0844H045

[F Term (For Reference)]

4C084AA03AA07BA  
14CA59MA35MA66NA14ZB35ZC204H045AA10AA30BA  
11DA55EA29FA31 FA51GA40HA32

[Request for Examination]

Unrequested

(21) [Application Number]

Japan Patent Application 2001- 125618 (P2001- 125618)

(22) [Application Date]

Heisei 13\*April 24\* (2001.4.24)

(71) [Applicant]

[Identification Number]

000199175

[Name]

**SENJU PHARMACEUTICAL CO. LTD. (DB  
69-054-0430)**

[Address]

Osaka Prefecture Osaka City Chuo-ku Hiranomachi 2-5-8

(72) [Inventor]

[Name]

Choi \*\*

[Address]

Hyogo Prefecture Kobe City Suma-ku Shirakawadai 6-Chome  
4 \*8608\*

(72) [Inventor]

[Name]

Inoue Atsushi

[Address]

Hyogo Prefecture Kobe City Suma-ku Shirakawa \*\*\*1  
\*6603\*

(72) [Inventor]

## 【氏名】

中村 雅之

## 【住所又は居所】

兵庫県神戸市北区泉台3丁目16番地の10

## [Name]

Nakamura Masayuki

## [Address]

Hyogo Prefecture Kobe City Kita-ku Izumidai 3-Chome  
16address \*10

## Agents

## (74)【代理人】

## 【識別番号】

100118360

## 【弁理士】

## 【氏名又は名称】

松田 玲子

## Abstract

## (57)【要約】

## 【課題】

強力な PDF 阻害作用および抗菌作用を有する  
ペプチジルヒドロキサム酸誘導体を提供すること  
である。

## 【解決手段】

式(I)

【化 1】

## (74) [Attorney(s) Representing All Applicants]

## [Identification Number]

100118360

## [Patent Attorney]

## [Name]

Matsuda Reiko

## (57) [Abstract ]

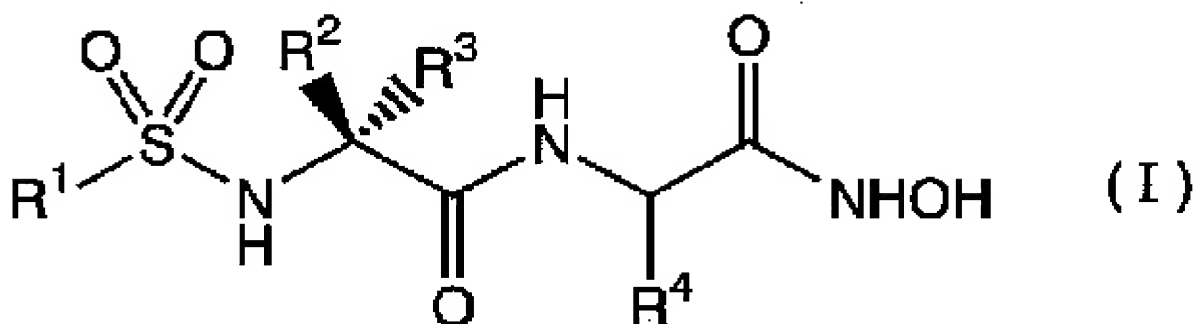
## [Problems to be Solved by the Invention ]

It is to offer peptidyl hydroxamic acid derivative which  
possesses strong PDFinhibition and antibacterial action .

## [Means to Solve the Problems ]

Formula (I )

[Chemical Formula 1 ]



〔式中、 $R^1$  は置換されていてもよい炭素数 6~10  
のアリール基を示し、 $R^2$  と  $R^3$  は同一または異な  
って、水素または炭素数 1~4 のアルキル基を示  
し、 $R^4$  は炭素数 1~5 のアルキル基を示す。〕で  
表わされる化合物またはその塩を含有するペプ

[pepuchidodehorumiraaze ] inhibitor and antibacterial . which  
contain compound or its salt which is displayedwith {In  
Formula,  $R^{<sup>1</sup>}$  shows aryl group of optionally  
substitutable carbon number 6~10,  $R^{<sup>2</sup>}$  and  
 $R^{<sup>3</sup>}$  show alkyl group of identical or different ,

チドデホルミラーゼ阻害剤および抗菌剤。

hydrogen or carbon number 1~4, R<sup>4</sup> shows alkyl group of carbon number 1~5. }

# Claims

【特許請求の範囲】

[Claim (s)]

【請求項 1】

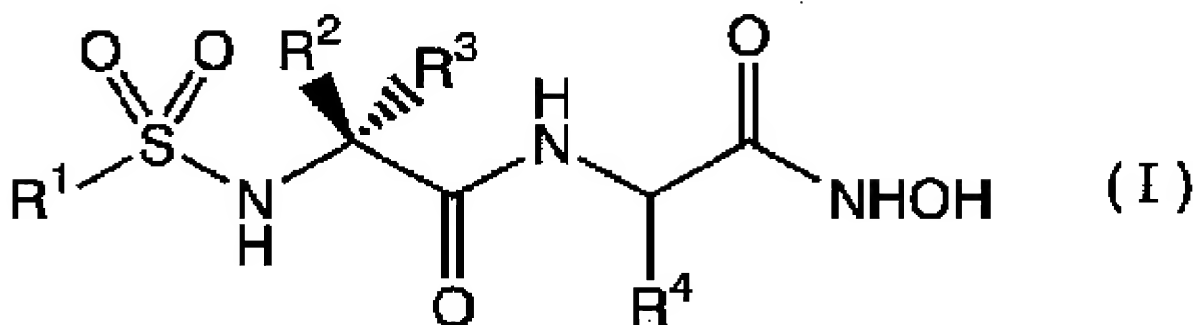
[Claim 1 ]

一般式(I)

General Formula (I )

【化 1】

[Chemical Formula 1 ]



〔式中、R<sup>1</sup> は置換されていてもよい炭素数 6~10 のアリール基を示し、R<sup>2</sup> と R<sup>3</sup> は同一または異なって、水素または炭素数 1~4 のアルキル基を示し、R<sup>4</sup> は炭素数 1~5 のアルキル基を示す。〕で表わされる化合物またはその塩。

compound or its salt . which is displayed with {In Formula, R<sup>1</sup> shows aryl group of optionally substitutable carbon number 6~10, R<sup>2</sup> and R<sup>3</sup> show alkyl group of identical or different , hydrogen or carbon number 1~4, R<sup>4</sup> shows alkyl group of carbon number 1~5. }

【請求項 2】

[Claim 2 ]

R<sup>1</sup> がハロゲン原子で置換されているフェニル基である請求項 1 記載の化合物またはその塩。

compound or its salt . which is stated in Claim 1 which is a phenyl group where the R<sup>1</sup> is substituted with halogen atom

【請求項 3】

[Claim 3 ]

R<sup>1</sup> が 4-フルオロフェニル基である請求項 2 記載の化合物またはその塩。

R<sup>1</sup> 4-fluorophenyl group compound or its salt . which is stated in Claim 2 which is

【請求項 4】

[Claim 4 ]

R<sup>2</sup> がイソプロピル、R<sup>3</sup> が水素、R<sup>4</sup> がイソブチルである請求項 1 記載の化合物またはその塩。

R<sup>2</sup> isopropyl , R<sup>3</sup> compound or its salt . which is stated in Claim 1 where the hydrogen , R<sup>4</sup> is isobutyl

【請求項 5】

[Claim 5 ]

請求項 1 記載の化合物またはその塩を含有する医薬。

pharmaceutical . which contains compound or its salt which is stated in Claim 1

## 【請求項 6】

ペプチドデホルミラーゼ阻害剤である請求項 5 記載の医薬。

## 【請求項 7】

抗菌剤である請求項 5 記載の医薬。

## Specification

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、ペプチドデホルミラーゼ阻害活性および抗菌活性を有する新規なペプチジルヒドロキサム酸誘導体およびその誘導体を有効成分とする医薬に関する。

## 【0002】

## 【従来の技術】

次々と出現する薬剤耐性菌に対して抗菌力を発揮するために、今までにない新たな作用機序を有する化合物が求められている。

原核生物におけるタンパク質合成は、メチオニル tRNA のホルミル化から始まり、N-末にホルミル基を有するポリペプチドが最初に合成される (Meinzel, T., Mechulam, Y., Blanquet, S., Biochimie, 75, 1161-75 (1993))。

ペプチドデホルミラーゼ(以下、PDF と記載することもある。)は、このポリペプチドから N-末のホルミル基を切断する酵素で、機能を持ったタンパク質とする酵素であるため、原核生物の生育には不可欠な酵素である (Adams, J.M., J. Mol. Biol., 33, 571-89 (1968), Livingston, D.M., Leder, P., Biochemistry, 8, 435-43 (1968), Takeda, M., Webster, R.E., Pro. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 60, 1487-94 (1968))。

一方、ヒトなどの真核生物のタンパク質合成は、ペプチドのホルミル化-脱ホルミル化を必要としないので、PDF を有しない。

このため、細菌などの原核生物にのみ存在する PDF の阻害は抗菌剤開発の魅力的なターゲットである。

PDF は活性部位に鉄を有するメタロプロテアーゼであり、その不安定さゆえ精製が困難で阻害剤を探索するための活性測定ができなかった。

## [Claim 6]

pharmaceutical . which is stated in Claim 5 which is a [pepuchidodehorumiraaze ] inhibitor

## [Claim 7]

pharmaceutical . which is stated in Claim 5 which is a antibacterial

## [Description of the Invention]

## [0001]

## [Technological Field of Invention]

this invention regards pharmaceutical which designates [pepuchidodehorumiraaze ] inhibiting activity and the novel peptidyl hydroxamic acid derivative and its derivative which possess antibiotic activity as active ingredient .

## [0002]

## [Prior Art]

One after another, in order to show antimicrobial strength vis-a-vis drug resistant fungi which appears, compound which possesses new action mechanism which to now is notis sought.

Meinzel, T., Mechulam, Y., Blanquet, S., Biochimie, 75, 1161-75 (1993). protein synthesis in prokaryotic organism starts from formylation of methionyl tRNA , polypeptide which possesses formyl group on N- end is synthesized first

Adams , J.M., Journal of Molecular Biology (0022 - 2836, JMOBAC ), 33, 571 - 89 (1968), Livingston, D.M., Leder , P., Biochemistry (0006 - 2960, BICHAW ), 8, 435 - 43 (1968), Takeda, M., Webster, R.E., Pro .Natl.Acad.Sci.U.S.A., 60, 1487-94 (1968). [pepuchidodehorumiraaze ] (Below, PDF there are also times when it states. ), because with enzyme which cuts off formyl group of N- end from this polypeptide , it is a enzyme which is made protein which hadfunction, being a indispensable enzyme in growth of prokaryotic organism , it is

On one hand, because protein synthesis of human or other eukaryote does not need formylation - deviation from formylation of peptide , it does not possess PDF.

Because of this , inhibition of PDF which exists is attractive target of antibacterial development in only bacterium or other prokaryotic organism .

As for PDF with metalloprotease which possesses iron in the active site , unstable reason refining being difficult, activity measurement in order to search inhibitor was not possible.

しかし、近年の分子生物学の進歩により PDF が単離精製され、その阻害剤の開発が始まった(Rajagopalan, P.T.R., Yu, X.C., Pei, D., J. Am. Chem. Soc., 119, 12418-9 (1997), Rajagopalan, P.T.R., Datta, A., Pei, D., Biochemistry, 36, 13910-8 (1997), Becker, A., Schlichting, I., Kabsch, W., Shultz, S., Wagner, A.F.V., J. Biol. Chem., 273, 11413-16 (1998), Meinnel, T., Blanquet, S., Dardel, F., J. Mol. Biol., 262, 375-86 (1996), Chan, M.K., Gong, W.M., Rajagopalan, P.T.R., Hao, B., Tsai, C.M., Pei, D., Biochemistry, 36, 13904-9 (1997), Dardel, F., Ragusa, S., Lazennec, C., Blanquet, S., Meinnel, T., J. Mol. Biol., 262, 375-86 (1996)).

現在までのところ報告されている PDF 阻害剤としては、

天然物のアクチノニン(Chen, Dawn Z.; Patel, Dinesh V.; Hackbarth, Corinne J.; Wang, Wen; Dreyer, Geoffrey; Young, Dennis C.; Margolis, Peter S.; Wu, Charlotte; Ni, Zi-Jie; Trias, Joaquim; White, Richard J.; Yuan, Zhengyu, Biochemistry, 39, 1256-62 (2000))を始め、

H-phosphonate 誘導体(Hu, Yun-Jin; Rajagopalan, P. T. Ravi; Pei, Dehua, Bioorg. Med. Chem. Lett., 8, 2479-82, (1998)),

ペプチダルデヒド誘導体(Durand, Daniel J.; Gordon, Green, Barbara; O'Connell, John F.; Grant, Stephan K., Arch. Biochem. Biophys., 367, 297-302, (1999)), ピフェニル酸誘導体(Green, Barbara Gordon; Toney, Jeffrey H.; Kozarich, John W.; Grant, Stephan K., Arch. Biochem. Biophys., 375, 355-8, (2000)), ペプチドチオール誘導体(Huntington, Kristi M.; Yi, Tian; Wei, Yaoming; Pei, Dehua, Biochemistry, 39, 4543-51 (2000)), ペプチドヒドロキサム酸誘導体(WO 99/57097), スルホニルヒドロキサム酸誘導体(Apfel, Christian; Banner, David W.; Bur, Daniel; Dietz, Michel; Hirata, Takahiro; Hubschwerlen, Christian; Locher, Hans; Page, Malcolm G. P.; Pirson, Wolfgang; Rose, Gerard; Specklin, Jean-Luc, J. Med. Chem., 43, 2324-31 (2000)), ヒドロキシアミン誘導体(WO 99/39704; Clements, John M.; Beckett, R. Paul; Brown, Anthony; Catlin, Graham; Lobell, Mario; Palan, Shilpa; Thomas, Wayne; Whittaker, Mark; Wood, Stephen; Salama, Sameeh; Baker, Patrick J.; Rodgers, H. Fiona; Barynin, Vladimir; Rice, David W.; Hunter, Michael G., Antimicrob. Agents Chemother., 45, 563-570 (2001))などが挙げられるが、未だ臨床に用いられているもの

Rajagopalan, P.T.R., Yu, X.C., Pei, D., Journal of the American Chemical Society (0002 - 7863, JACSAT ), 119 and 12418 - 9 (1997), Rajagopalan, P.T.R., Datta, A., Pei, D., Biochemistry (0006 - 2960, BICHAW ), 36, 13910 - 8 (1997), Becker, A., Schlichting, I., Kabsch, W., Shultz, S., Wagner, A.F.V., Journal of Biological Chemistry (0021 - 9258, JBCHA3 ), 273 and 11413 - 16 (1998), Meinnel, T., Blanquet, S., Dardel, F., Journal of Molecular Biology (0022 - 2836, JMOBAK ), 262, 375 - 86 (1996), Chan, M.K., Gong, W.M., Rajagopalan, P.T.R., Hao, B., Tsai, C.M., Pei, D., Biochemistry (0006 - 2960, BICHAW ), 36 and 13904 - 9 (1997), Dardel, F., Ragusa, S., Lazennec, C., Blanquet, S., Meinnel, T., Journal of Molecular Biology (0022 - 2836, JMOBAK ), 262, 375 - 86 (1996). But, PDF isolation and purification is done by progress of molecular biology of recent years, development of inhibitor starts

To date as PDF inhibitor which is reported,

After Chen, Dawn Z.; Patel, Dinesh V.; Hackbarth, Corinne J.; Wang, Wen; Dreyer, Geoffrey; Young, Dennis C.; Margolis, Peter S.; Wu, Charlotte; Ni, Zi-Jie; Trias, Joaquim; White, Richard J.; Yuan, Zhengyu, Biochemistry (0006 - 2960, BICHAW ), 39, 1256 - 62 (2000), natural product [akuchinonin]

Hu, Yun-Jin; Rajagopalan, P.T. Ravi; Pei, Dehua, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (0960 - 894 X ), 8, 2479 - 82, (1998), H-phosphonate derivative

You can list WO 99/39704; Clements, John M.; Beckett, R. Paul; Brown, Anthony; Catlin, Graham; Lobell, Mario; Palan, Shilpa; Thomas, Wayne; Whittaker, Mark; Wood, Stephen; Salama, Sameeh; Baker, Patrick J.; Rodgers, H. Fiona; Barynin, Vladimir; Rice, David W.; Hunter, Michael G., Antimicrob. agents Chemother., 45, 563-570 (2001) etc, but there are not any which still are used for clinic, it is a step of research and development. Apfel, Christian; Banner, David W.; Bur, Daniel; Dietz, Michel; Hirata, Takahiro; Hubschwerlen, Christian; Locher, Hans; Page, Malcolm G. P.; Pirson, Wolfgang; Rose, Gerard; Specklin, Jean-Luc, Journal of Medicinal Chemistry (0022 - 2623, JMCMAR ), 43, 2324 - 31 (2000), hydroxylamine derivative Huntington, Kristi M.; Yi, Tian; Wei, Yaoming; Pei, Dehua, Biochemistry (0006 - 2960, BICHAW ), 39, 4543 - 51 (2000), peptide hydroxamic acid derivative (WO 99/57097), sulfonyl hydroxamic acid derivative Green, Barbara Gordon; Toney, Jeffrey H.; Kozarich, John W.; Grant, Stephan K., Archives of Biochemistry and Biophysics (0003 - 9861, ABBIA ), 375, 355 - 8, (2000), peptide thiol derivative Durand, Daniel J.; Gordon, Green, Barbara; O'Connell, John F.; Grant, Stephan K., Archives of Biochemistry and Biophysics (0003 - 9861, ABBIA ), 367, 297 - 302, (1999), biphenyl acid derivative peptide aldehyde derivative

はなく、研究開発の段階である。

【0003】

一方、ペプチジルヒドロキサム酸誘導体は、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤として今まで多くの報告がされている(US 4599361, US 5256657, US 5268384, US 5552419, EP 236872, EP 274453, EP 423943, EP 489577, EP 489579, EP 497192, EP 574758, WO 90/05716, WO 90/05719, WO 91/02716, WO 92/13831, WO 92/22523, WO 93/09090, WO 93/09097, WO 93/20047, WO 93/24449, WO93/24475, WO 94/02446, WO 94/02447, WO 94/21612, WO 94/25434, WO 94/25435, WO 96/26918, WO 96/25156, WO 2000/034313, JP 08311096 等)が、PDF 阻害剤としては、上述のペプチドヒドロキサム酸誘導体(WO 99/57097)に述べられているだけである。

そこで、PDF 阻害活性を有する新規ペプチジルヒドロキサム酸誘導体の開発を図るべく発明者らは鋭意研究を行った。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

強力な PDF 阻害作用および抗菌作用を有するペプチジルヒドロキサム酸誘導体を提供することである。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、強い PDF 阻害作用および抗菌作用を有する下記一般式(I)

【化 2】

derivative peptide aldehyde derivative

[0003]

On one hand, to now (U.S. Patent 4599361, U.S. Patent 5256657, U.S. Patent 5268384, U.S. Patent 5552419, European Patent 236872, European Patent 274453, European Patent 423943, European Patent 489577, European Patent 489579, European Patent 497192, European Patent 574758, WO 90/05716, WO 90/05719, WO 91/02716, WO 92/13831, WO 92/22523, WO 93/09090, WO 93/09097, WO 93/20047, WO 93/24449, WO 93/24475, WO 94/02446, WO 94/02447, WO 94/21612, WO 94/25434, WO 94/25435, WO 96/26918, WO 96/25156, WO 2000/034313, JP08311096 etc) where many reports are done, just is expressed to above-mentioned peptide hydroxamic acid derivative (WO 99/57097) as PDFinhibitor, as for the peptidyl hydroxamic acid derivative, as matrix metalloprotease inhibitor.

Then, in order that development of novel peptidyl hydroxamic acid derivative which possesses PDFinhibiting activity is assured inventors did diligent research.

[0004]

[Problems to be Solved by the Invention]

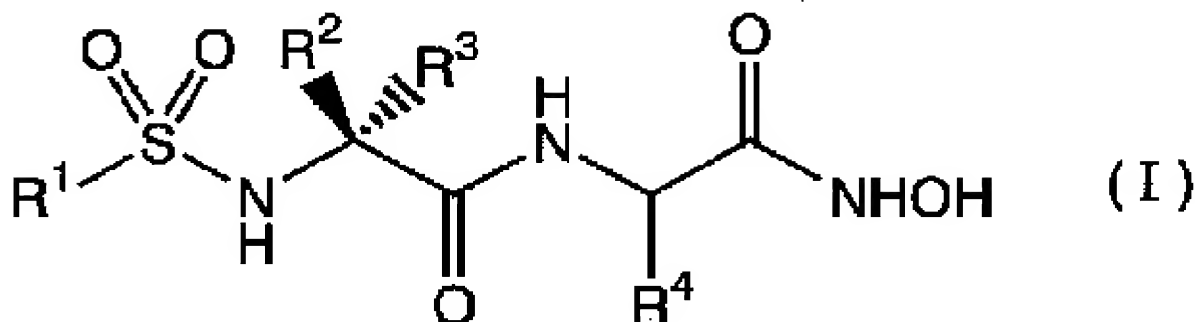
It is to offer peptidyl hydroxamic acid derivative which possesses strong PDFinhibition and antibacterial action.

[0005]

[Means to Solve the Problems]

As for these inventors, in order to solve above-mentioned problem, as for result of doing diligent research, below-mentioned General Formula which possesses strong PDFinhibition and antibacterial action (I)

[Chemical Formula 2]



【0006】

[式中、 $R^1$  は置換されていてもよい炭素数 6~10 のアリール基を示し、 $R^2$  と  $R^3$  は同一または異なって、水素または炭素数 1~4 のアルキル基を示し、 $R^4$  は炭素数 1~5 のアルキル基を示す。]で表わされる化合物およびその塩を創製し、さらに研究を進めて本発明を完成した。

なお、本発明で使用するアミノ酸に光学異性体が存在する場合、特に明示しない限り L 体を示すものとする。

また、本明細書中において「低級アルキル」とは、特に明示しない限り炭素数 1~5 のアルキル基を意味するものとする。

【発明の実施の形態】

【0007】

上記式(I)中、 $R^1$  で表される炭素数 6~10 のアリール基としては、たとえばフェニル、ナフチル、インデニル、アズレニルなどが挙げられる。

好ましくは、フェニル、ナフチルである。

アリール基が有してもよい置換基としてはハロゲン原子(フッ素、塩素など)、低級アルキル、トリフルオロメチル、炭素数 1~5 のアルコキシ、ヒドロキシ、炭素数 2~5 のアシルオキシ、カルボキシ及び炭素数 2~5 のアシル基が挙げられる。

好ましくはハロゲン原子および低級アルキル基である。

[0006]

compound and its salt which are displayed with {In Formula,  $R^{<sup>1</sup>}$  shows aryl group of optionally substitutable carbon number 6~10,  $R^{<sup>2</sup>}$  and  $R^{<sup>3</sup>}$  show alkyl group of identical or different, hydrogen or carbon number 1~4,  $R^{<sup>4</sup>}$  shows alkyl group of carbon number 1~5. } were done the new preparation, furthermore research was advanced and this invention was completed.

Furthermore, when optical isomer exists in amino acid which is used with the this invention, if especially it does not state clearly, show L isomer.

In addition, in in this specification "lower alkyl" with, if especially it does not stateclearly, mean alkyl group of carbon number 1~5.

[Embodiment of the Invention]

[0007]

You can list for example phenyl, naphthyl, indenyl, azulenylyl etc in above Formula (I), as aryl group of carbon number 6~10 which is displayed with  $R^{<sup>1</sup>}$ .

It is a preferably, phenyl, naphthyl.

halogen atom (Such as fluorine, chlorine), you can list acyloxy, carboxyl of alkoxy, hydroxyl, carbon number 2~5 of lower alkyl, trifluoromethyl, carbon number 1~5 and the acyl group of carbon number 2~5 as substituent aryl group may possess.

It is a preferably halogen atom and lower alkyl group.



より好ましくは、フッ素である。

R<sup>1</sup>で表される置換基を有してもよい炭素数 6~10 のアリール基の好適な具体例としては、4-フルオロフェニルである。

【0008】

R<sup>2</sup> または R<sup>3</sup> で表される炭素数 1~4 のアルキル基としては、たとえばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチルなどが挙げられる。

好ましくはプロピル、イソプロピル、tert-ブチルである。

より好ましくはイソプロピルである。

R<sup>2</sup> と R<sup>3</sup> は、好ましくは R<sup>2</sup> または R<sup>3</sup> の一方が水素であって、他方がプロピル、イソプロピル、イソブチルまたは tert-ブチルであり、より好ましくは、R<sup>2</sup> がプロピル、イソプロピル、イソブチルまたは tert-ブチルであって、R<sup>3</sup> が水素であり、さらに好ましくは R<sup>2</sup> がイソプロピルであって、R<sup>3</sup> が水素である。

【0009】

R<sup>4</sup> で表される炭素数 1~5 のアルキル基としては、たとえばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチルなどが挙げられる。

好ましくはイソブチルである。

【0010】

本発明における一般式(I)で表される化合物の塩としては生理学的に許容される塩が好ましく、たとえば無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などが挙げられる。

無機塩基との塩の好適な例としては、たとえばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；アルミニウム塩、アンモニウム塩などが挙げられる。

有機塩基との塩の好適な例としては、たとえばトリメチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩が挙げられる。

無機酸との塩の好適な例としては、たとえば塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸などとの塩が挙げられる。

It is a more preferably, fluorine .

4-fluorophenyl is as preferred embodiment of aryl group of carbon number 6~10 which is possible to possess substituent which is displayed with R<sup><sup>1</sup></sup>

[0008]

You can list for example methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, s-butyl, t-butyl etc as alkyl group of carbon number 1~4 which is displayed with R<sup><sup>2</sup></sup> or R<sup><sup>3</sup></sup>.

It is a preferably propyl, isopropyl, t-butyl .

It is a more preferably isopropyl .

As for R<sup><sup>2</sup></sup> and R<sup><sup>3</sup></sup>, one side of preferably R<sup><sup>2</sup></sup> or R<sup><sup>3</sup></sup> being a hydrogen, other with propyl, isopropyl, isobutyl or t-butyl, more preferably, R<sup><sup>2</sup></sup> with propyl, isopropyl, isobutyl or t-butyl, R<sup><sup>3</sup></sup> being hydrogen, furthermore the preferably R<sup><sup>2</sup></sup> being isopropyl, R<sup><sup>3</sup></sup> is hydrogen .

[0009]

You can list for example methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, s-butyl, t-butyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, t-pentyl etc as alkyl group of carbon number 1~5 which is displayed with R<sup><sup>4</sup></sup>.

It is a preferably isobutyl .

[0010]

physiologically acceptable salt is desirable as salt of compound which is displayed with General Formula (I) in this invention, of for example inorganic base of salt, organic base of salt, inorganic acid of salt, organic acid salt etc of salt, basic or acidic amino acid is listed.

As preferred example of salt of inorganic base, you can list for example sodium salt, potassium salt or other alkali metal salt ; calcium salt, magnesium salt or other alkaline earth metal salt ; aluminum salt, ammonium salt etc.

As preferred example of salt of organic base, you can list salt of the for example trimethyl amine, pyridine, picoline, ethanolamine, diethanolamine, triethanolamine, dicyclohexyl amine, N, N- dibenzyl ethylenediamine etc.

As preferred example of salt of inorganic acid, you can list salt of the for example hydrochloric acid, hydrobromic acid, nitric acid, sulfuric acid, phosphoric acid etc.

有機酸との塩の好適な例としては、たとえばギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸などとの塩が挙げられる。

塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、たとえばアルギニン、リジン、オルニチンなどとの塩が挙げられ、酸性アミノ酸との塩の好適な例としては、たとえばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩が挙げられる。

【0011】

本発明の化合物は、たとえば下記の一般反応式

【化3】

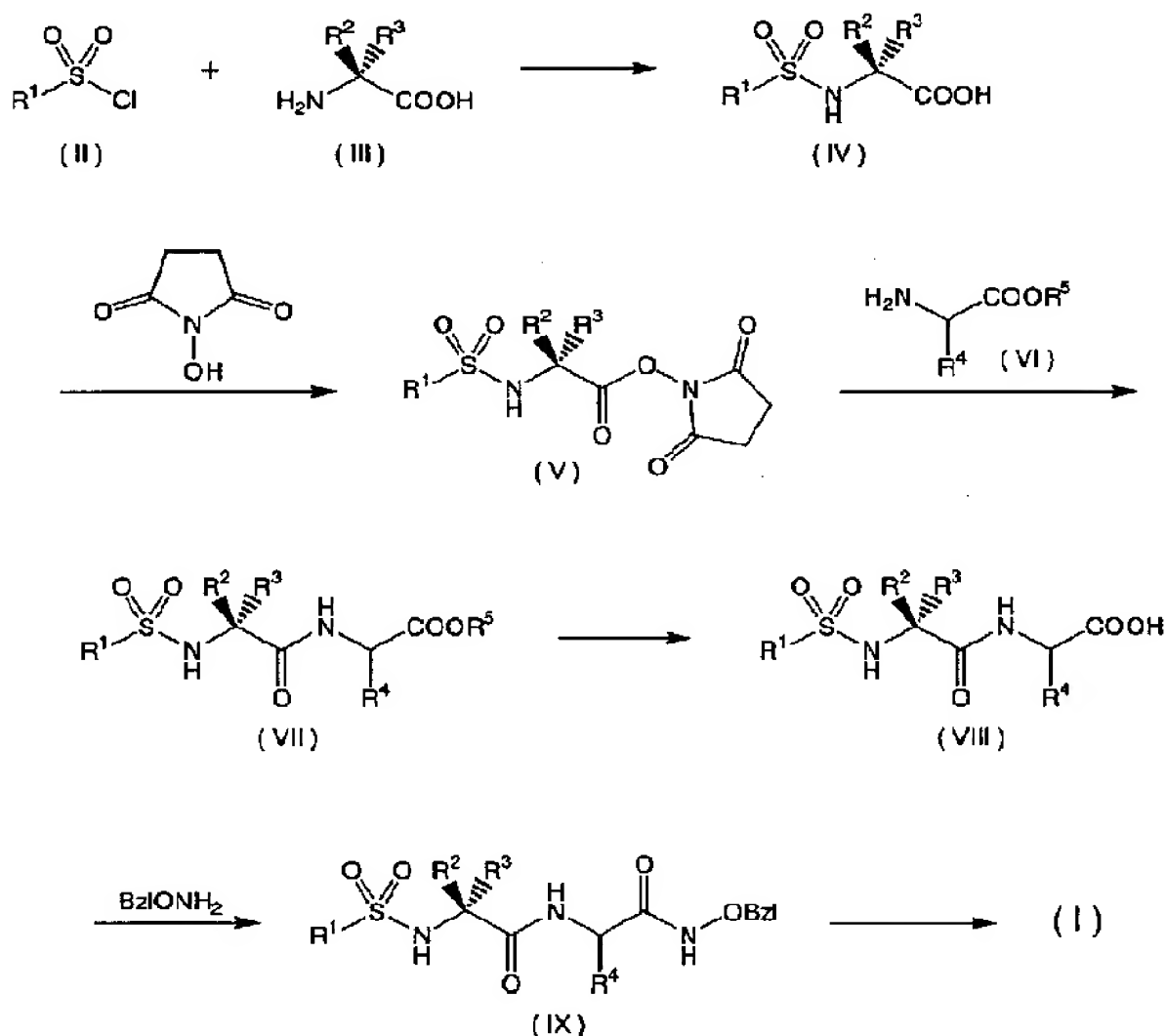
As preferred example of salt of organic acid , you can list salt of the for example formic acid , acetic acid , trifluoroacetic acid , fumaric acid , oxalic acid , tartaric acid , maleic acid , citric acid , succinic acid , malic acid , methane sulfonic acid , benzenesulfonic acid , p-toluenesulfonic acid etc.

As preferred example of salt of basic amino acid , you can list salt of the for example arginine , lysine , ornithine , etc you can list salt of for example aspartic acid , glutamic acid etc as preferred example of the salt of acidic amino acid .

[0011]

As for compound of this invention , for example below-mentioned general reaction scheme

[Chemical Formula 3 ]



【0012】

〔反応式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$  は上記一般式(I)で定義したのと同意義を有する。また、 $R^5$  は低級アルキル基を示し、Bzl はベンジル基を示す。〕により製造することができる。

一般式(II)で表されるスルホニルクロリド〔以下、化合物(II)と記載することもある。〕としては、たとえばナフタレンスルホニルクロリド、トルエンスルホニルクロリド、フルオロベンゼンスルホニルクロリド、クロロベンゼンスルホニルクロリド、メタンスルホニルクロリド、ブロモベンゼンスルホニルクロリド、ベンゼンスルホニルクロリドなどが挙げらる。

【0012】

It can produce with {In reaction scheme,  $R^{>1/}$ ,  $R^{>2/}$ ,  $R^{>3/}$ ,  $R^{>4/}$  that it defined with above-mentioned General Formula (I), has same meaning. In addition,  $R^{>5/}$  shows lower alkyl group, Bzl shows benzyl group. }.

sulfonyl chloride which is displayed with General Formula (II) {Below, compound (II) with there are also times when it states. } as, for example naphthalene sulfonyl chloride, toluene sulfonyl chloride, fluorobenzene sulfonyl chloride, chlorobenzene sulfonyl chloride, methane sulfonyl chloride, bromobenzene sulfonyl chloride, benzene sulfonyl chloride etc listing and others \*.

## 【0013】

一般式(III)で表される化合物〔以下、化合物(II I)と記載することもある。〕としては、いわゆる $\alpha$ -アミノ酸と称されるものであればいずれでもよい。

特にグリシン、アラニン、バリン、D-バリン、ノルバリン、ロイシン、イソロイシン、ノルロイシン、tert-ロイシンなどが好適である。

化合物(II)と化合物(III)の反応は、通常知られる方法、たとえばショッテン-パウマン(Shotten-Baumann)反応などにより行なうことができる。

## 【0014】

一般式(IV)で表される化合物と N-ヒドロキシコハク酸イミドは、通常使用される有機溶媒(たとえば、テトラヒドロフラン、ジクロロメタン、クロロホルム、酢酸エチルなど)に溶解し、縮合剤で縮合させる。

該縮合剤としては、たとえば N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミドまたは 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩などが好適に使用される。

一般式(VI)で表されるアミノ酸エステル〔以下、化合物(VI)と記載することもある。〕としては、たとえばグリシンメチルエステル、グリシンエチルエステル、グリシン tert-ブチルエステル、アラニンメチルエステル、アラニンエチルエステル、アラニン tert-ブチルエステル、バリンメチルエステル、バリンエチルエステル、バリン tert-ブチルエステル、ノルバリンメチルエステル、ノルバリンエチルエステル、ノルバリン tert-ブチルエステル、ロイシンメチルエステル、ロイシンエチルエステル、ロイシン tert-ブチルエステル、イソロイシンメチルエステル、イソロイシンエチルエステル、イソロイシン tert-ブチルエステル、ノルロイシンメチルエステル、ノルロイシンエチルエステル、ノルロイシン tert-ブチルエステル、tert-ロイシンメチルエステル、tert-ロイシンエチルエステル、tert-ロイシン tert-ブチルエステル、2-アミノヘキサノ酸メチルエステル、2-アミノヘキサノ酸エチルエステル、2-アミノヘキサノ酸 tert-ブチルエステルなどが挙げられる。

## 【0015】

一般式(VII)で表される化合物〔以下、化合物(VII)と記載することもある。〕は、一般式(V)で表される化合物と化合物(VI)より、公知のペプチド合成法に準じて製造することができる。

## [0013]

If so-called  $\alpha$ -amino acid it is something which is named compound which is displayed with general formula (III) {Below, compound (III) with there are also times when it states.} as, it is good whichever.

Especially glycine, alanine, valine, D-valine, norvaline, leucine, isoleucine, norleucine, t-leucine etc is ideal.

compound (II) with as for reaction of compound (III), method usually of being possible to be known. It is possible to do with for example Schotten -Baumann (Shotten-Baumann) reaction etc.

## [0014]

It melts compound and N-hydroxy succinimide which are displayed with General Formula (IV), in organic solvent (Such as for example tetrahydrofuran, dichloromethane, chloroform, ethylacetate) which usually is used, condenses with condensing agent.

As said condensing agent, for example N, N-dicyclohexyl carbodiimide or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide acetate etc is used for ideal.

You can list for example glycine methyl ester, glycine ethyl ester, glycine t-butyl ester, alanine methyl ester, alanine ethyl ester, alanine t-butyl ester, valine methyl ester, valine ethyl ester, valine t-butyl ester, norvaline methyl ester, norvaline ethyl ester, norvaline t-butyl ester, leucine methyl ester, leucine ethyl ester, leucine t-butyl ester, isoleucine methyl ester, isoleucine ethyl ester, isoleucine t-butyl ester, norleucine methyl ester, norleucine ethyl ester, norleucine t-butyl ester, t-leucine methyl ester, t-leucine ethyl ester, t-leucine t-butyl ester, 2-amino hexanoic acid methyl ester, 2-amino hexanoic acid ethyl ester, 2-amino hexanoic acid t-butyl ester etc amino acid ester which is displayed with General Formula (VI) {Below, compound (VI) with there are also times when it states.} as.

## [0015]

It can produce compound {Below, compound (VII) with there are also times when it states.} which is displayed with General Formula (VII), the compound and compound which are displayed with General Formula (V) (VI) from, according to peptide synthesis method of public knowledge.

例えば、液相合成法、固相合成法などのペプチド合成の常套手段を用いることができる。

さらに、化合物(VII)をアルカリまたは酸で加水分解すると、一般式(VIII)で表わされる化合物〔以下、化合物(VIII)と記載することもある。〕を製造することができる。

アルカリ加水分解は、水酸化ナトリウムおよび水酸化カリウム水溶液などのアルカリ水溶液を用いるが、化合物(VII)の溶解度を増加させるためにアルカリ水溶液にメタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、ジオキサンおよびテトラヒドロフランなどを添加した溶液も好適に利用できる。

アルカリ加水分解物は次いで塩酸および硫酸などの無機酸で処理し遊離カルボン酸とする。

反応温度は、通常、冷却下から加温下の範囲であり、好ましくは 0 deg C~30 deg C の範囲である。

酸加水分解の条件としては、一般に塩酸および硫酸などの無機酸を使用するが、三塩化ホウ素のようなルイス酸も使用できる。

反応は酢酸、ギ酸溶液中で行うのが好ましい。

反応温度は、通常室温から加温下の範囲であり、好ましくは 30 deg C~100 deg C の範囲である。

【0016】

化合物(VIII)またはカルボキシル基におけるその反応性誘導体またはその塩を、有機溶媒中、O-ベンジルヒドロキシルアミンと縮合させることにより、一般式(IX)で表わされる化合物〔以下、化合物(IX)と記載することもある。〕を製造することができる。

化合物(VIII)のカルボキシル基における好適な反応性誘導体としては、酸ハロゲン化物、酸無水物、活性化アミド、活性化エステル等が挙げられる。

酸ハロゲン化物としては酸塩化物等が挙げられ、酸無水物としては、たとえば置換されたリン酸(ジアルキルリン酸、フェニルリン酸、ジフェニルリン酸、ジベンジルリン酸、ハロゲン化リン酸等)、ジアルキル亜リン酸、亜硫酸、チオ硫酸、硫酸、スルホン酸(メタンスルホン酸等)、脂肪族カルボン酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、ピバル酸、ペンタン酸、イソペンタン酸、トリ

conventional means of for example liquid phase synthetic method , solid phase synthesis method or other peptide synthesis can be used.

Furthermore, when compound (VII ) hydrolysis is done with alkali or the acid , compound {Below, compound (VIII ) with there are also times when it states. } which is displayed with General Formula (VIII ) can be reproduced.

alkali hydrolysis uses sodium hydroxide and potassium hydroxide aqueous solution or other aqueous alkali solution , but also solution which in order to increase adds methanol , ethanol , propanol , isopropanol , butanol , dioxane and tetrahydrofuran etc in aqueous alkali solution can utilize solubility of compound (VII ) ideally.

Next it treats alkali hydrolysate with hydrochloric acid and and sulfuric acid or other inorganic acid makes the free carboxylic acid .

reaction temperature , usually, in range under heating, is range of preferably 0deg C~30deg C from under cooling.

As condition of acid hydrolysis , hydrochloric acid and sulfuric acid or other inorganic acid are used generally, but you can use also Lewis acid like boron trichloride .

As for reaction it is desirable to do in acetic acid , formic acid solution .

reaction temperature , in range under heating, is range of preferably 30deg C~100deg C usually from room temperature .

【0016】

compound (VIII ) or compound {Below, compound (IX ) with there are also times when it states. } which is displayed with General Formula (IX ) by in organic solvent , O-benzyl hydroxylamine condensing reactive derivative or its salt in carboxyl group , can be reproduced.

You can list acid halide , acid anhydride , activated amide , activated ester etc as preferred reactive derivative in carboxyl group of compound (VIII ) .

You can list acid chloride etc as acid halide , for example phosphoric acid which is substituted (dialkyl phosphoric acid , phenyl phosphoric acid , biphenyl phosphoric acid , dibenzyl phosphoric acid , phosphorus halide acid etc), dialkyl phosphorous acid , sulfurous acid , thiosulfuric acid , sulfuric acid , sulfonic acid (methane sulfonic acid etc), aliphatic carboxylic acid (acetic acid , propanoic acid , butanoic acid , isobutyric acid , pivalic acid , pentanoic acid , isopentanoic

クロロ酢酸等)または芳香族カルボン酸(安息香酸等)のような酸との混合酸無水物または対称酸無水物等が挙げられる。

活性化アミドの好適な例としては、たとえばイミダゾール、4-置換イミダゾール、ジメチルピラゾール、トリアゾールまたはテトラゾール等が挙げられる。

活性化エステル的好適な例としては、たとえばシアノメチルエステル、メトキシメチルエステル、ジメチルイミノメチルエステル、ビニルエステル、プロパルギルエステル、p-ニトロフェニルエステル、トリクロロフェニルエステル、ペンタクロロフェニルエステル、メチルフェニルエステル、フェニルアゾフェニルエステル、フェニルチオエステル、p-ニトロフェニルチオエステル、p-クレジルチオエステル、カルボキシメチルチオエステル、ピラニルエステル、ピリジルエステル、8-キノリルチオエステル、または N,N-ジメチルヒドロキシアミン、1-ヒドロキシ-2-(1H)-ピリドン、N-ヒドロキシスクシンイミド、N-ヒドロキシフタルイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール等の N-ヒドロキシ化合物とのエステル等が挙げられる。

化合物(VIII)およびその反応性誘導体の好適な塩としては、たとえばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩、ならびにアルミニウム塩、アンモニウム塩、たとえばトリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ピリジン塩、ピコリン塩、エタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N,N-ジベンジルエチレンジアミン塩等の有機塩基塩等のような塩基塩が挙げられる。

これら反応性誘導体は、使用する化合物(VIII)の種類によって任意に選択することができる。

この反応において、化合物(VIII)を遊離の形またはその塩の形で使用する場合には N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド、N-シクロヘキシル-N'-モルホリノエチルカルボジイミド、N-シクロヘキシル-N'-(4-ジエチルアミノシクロヘキシル)カルボジイミド、N,N'-ジエチルカルボジイミド、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド、N,N'-カルボニルビス(2-メチルイミダゾール)、ペンタメチレンケテン-N-シクロヘキシルイミン、ジフェニルケテン-N-シクロヘキシルイミン、エトキシアセチレン、1-アルコキシ-1-クロロエチレン、亜リン酸トリメチル、ポリリン酸エチル、ポリリン酸イソプロピル、オキシ塩化リン、ジフェニルホスホリアルジド、塩化チオニル、塩化オキサリル、たとえば、クロロギ酸エチル、クロロギ酸イソプロピル

acid, trichloroacetic acid etc) or you can list mixed acid anhydride or symmetric acid anhydride etc of acid like aromatic carboxylic acid (benzoic acid etc) as acid anhydride .

As preferred example of activated amide, you can list for example imidazole, 4- substituted imidazole, dimethyl pyrazole, triazole or tetrazole etc.

As preferred example of activated ester, for example cyanomethyl ester, methoxymethyl ester, dimethyl imino methyl ester, vinyl ester, propargyl ester, p- nitrophenyl ester, trichlorophenyl ester, penta chlorophenyl ester, methylphenyl ester, phenyl azo phenyl ester, phenylthio ester, p- nitrophenyl thioester, p- cresyl thioester, carboxymethyl thioester, pyranyl ester, pyridyl ester, 8-quinolyl thioester, or N, N- dimethyl hydroxylamine, 1- hydroxy -2- (1 H ) -pyridone, N- hydroxy succinimide, N- hydroxy phthalimide, 1- hydroxybenzotriazole or other N- hydroxy compound you can list ester etc.

compound (VIII) and as preferred salt of its reactive derivative, you can list for example sodium salt, potassium salt or other alkali metal salt, calcium salt, magnesium salt or other alkaline earth metal salt, and aluminum salt, ammonium salt, for example trimethyl amine salt, triethylamine salt, pyridine salt, picoline salt, ethanolamine salt, diethanolamine salt, triethanolamine salt, dicyclohexyl amine salt, N, N- dibenzyl ethylenediamine salt or other organic base salt or other base salt .

With types of compound (VIII) which is used it can select these reactive derivative, in option .

At time of this reacting, when compound (VIII) is used in form of free form or its salt, N, N' -dicyclohexyl carbodiimide, N- cyclohexyl -N' -morpholino ethyl carbodiimide, N- cyclohexyl -N' - (4 -diethyl amino cyclohexyl ) carbodiimide, N, N' -diethyl carbodiimide, N, N' -diisopropyl carbodiimide, 1- ethyl -3- (3 -dimethylaminopropyl ) carbodiimide, N, N' -carbonyl bis (2 -methyl imidazole ), pentamethylene ketene -N- cyclohexyl imine, biphenyl ketene -N- cyclohexyl imine, ethoxy acetylene, 1- alkoxy -1- chloro ethylene, trimethyl phosphite, ethyl polyphosphate, isopropyl polyphosphate, phosphorous oxychloride, diphenyl phosphoryl azide, thionyl chloride, oxalyl chloride, for example ethyl chloroformate, chloroformic acid isopropyl or other haloformic acid lower alkyl, triphenyl phosphine, 2- ethyl -7-hydroxy benzoisoxazolium salt, 2- ethyl -5-

等のハロギ酸低級アルキル、トリフェニルホスフィン、2-エチル-7-ヒドロキシベンズイソオキサゾリウム塩、2-エチル-5-(m-スルホフェニル)イソオキサゾリウムヒドロキシド分子内塩、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール、1-(p-クロロベンゼンスルフォニルオキシ)-6-クロロ-1H-ベンゾトリアゾール、N,N-ジメチルホルムアミドと塩化チオニル、ホスゲン、クロロギ酸トリクロロメチル、オキシ塩化リン等との反応によって調製したいわゆるビルスマイヤー試薬等のような常用の縮合剤の存在下に反応を行うのが望ましい。

縮合はアルカリ金属炭酸水素塩などの無機塩基、あるいはトリ低級アルキルアミン、ピリジン、N-低級アルキルモルホリンおよび1-ヒドロキシベンゾトリアゾールなどの有機塩基の存在下に行ってもよい。

1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩と1-ヒドロキシベンゾトリアゾールの組み合わせが好適である。

有機溶媒としては、例えばジクロロメタン、クロロホルム、N,N-ジメチルホルムアミドおよびテトラヒドロフランなどの慣用の溶媒あるいはそれら混合溶媒が挙げられる。

好ましくは、ジクロロメタンとN,N-ジメチルホルムアミドの混合溶媒である。

反応温度は、通常冷却下から加温下の範囲であり、好ましくは、20 deg C~50 deg C の範囲である。

#### 【0017】

さらに化合物(IX)のベンジル基を脱保護し、再結晶またはカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物(I)を製造することができる。

脱保護の方法は、還元、または酸加水分解があげられる。

還元は、接触還元あるいは Birch 還元(Birch, A. J.; Rao, G. Subba., Adv. Org. Chem., 1972, 8, 1.) など公知の方法を利用できるが、接触還元が好ましい。

接触還元の触媒はパラジウム-炭素、ラネーニッケルおよび酸化白金などが挙げられる。

好ましくはパラジウム-炭素である。

水素圧は1気圧~50気圧であるが、好ましくは1気圧~5気圧である。

溶媒としては、アルコール類(メタノール、エタノールなど)、エーテル類(テトラヒドロフランなど)、有機酸類(酢酸など)およびこれらの混合溶媒を用いる。

(m-sulfo phenyl) iso oxazolium hydroxide intramolecular salt, 1-hydroxybenzotriazole, 1-(p-chlorobenzene sulfonyl oxy)-6-chloro-1H-benzotriazole, N, N-dimethylformamide and it is desirable to react under existing of so-called Vilsmeier reagent or other usual condensing agent which is manufactured with reaction with thionyl chloride, phosgene, trichloromethyl chloroformate, phosphorous oxychloride etc.

alkali metal carbonate hydrogen salt or other inorganic base, or tri lower alkyl amine, pyridine, N-lower alkyl morpholine and 1-hydroxybenzotriazole or other organic base under existing it is possible as for to condense.

1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide acetate 1-hydroxybenzotriazole combination is ideal.

As organic solvent, you can list for example dichloromethane, chloroform, N, N-dimethylformamide and tetrahydrofuran or other usual solvent or those mixed solvent.

It is a mixed solvent of preferably, dichloromethane and N, N-dimethylformamide.

reaction temperature, in range under heating, is range of preferably, 20deg C~50deg C from under normality cooling.

#### [0017]

Furthermore benzyl group of compound (IX) is done deprotection, compound (I) can be produced by refining with recrystallization or column chromatography.

As for method of deprotection, it can increase reduction or acid hydrolysis.

Reduction can utilize known method such as catalytic reduction or Birch reduction (Birch, A. J.; Rao, G. Subba., Adv. Org. Chem., 1972, 8, 1.), but catalytic reduction is desirable.

catalyst of catalytic reduction is listed palladium-carbon, raney nickel and platinum oxide etc.

It is a preferably palladium-carbon.

hydrogen pressure is 1 atmosphere~50atmosphere, but it is a preferably 1atmosphere~5atmosphere.

As solvent, alcohols (Such as methanol, ethanol), ethers (Such as tetrahydrofuran), organic acids (Such as acetic acid) and these mixed solvent can be used.

使用できる。

反応温度は通常室温から加温下の範囲である。

酸加水分解の条件としては、一般に濃塩酸を使用するが、三フッ素化ホウ素のようなルイス酸も使用できる。

反応温度は、通常室温から加温下の範囲であり、好ましくは 30 deg C~100 deg C の範囲である。

【0018】

上記の一般反応式は本発明の化合物の合成方法を限定するものではなく、この分野で公知の他の方法を用いることもできる。

また、ペプチド合成の手段は、液相合成法、固相合成法などのペプチド合成の常套手段を用いればよく、例えば、泉屋信夫他著、「ペプチド合成の基礎と実験」、丸善株式会社、1985 年;矢島治明、榊原俊平著、「生化学実験講座 1」、日本生化学会編、東京化学同人、1977 年;木村俊也著、「続生化学実験講座 1」、日本生化学会編、東京化学同人、1987 年;鈴木信夫著、「第 4 版 実験化学講座 22 有機合成 IV」、日本化学会編、丸善株式会社、1992 年などに記載された方法またはそれに準じた方法により製造される。

【0019】

本発明の一般式(I)で表される化合物およびその塩(以下、本発明化合物と略称する場合がある。)は、文献未載の新規化合物であり、後記試験例に示すように優れた PDF 阻害活性および抗菌活性を有するため、それらを有効成分とし、必要により後記の担体等を組み合わせることにより、PDF 阻害剤および抗菌剤として有用である。

【0020】

本発明化合物を含有する医薬は、温血動物(例えば、ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコなど)に全身的または局所的に投与される。

全身的には経口投与の他、静脈内注射、皮下注射、筋肉内注射などの非経口法で投与される。

reaction temperature is range under heating usually from room temperature .

As condition of acid hydrolysis , concentrated hydrochloric acid is used generally, but you can use also Lewis acid like three fluorination boron .

reaction temperature , in range under heating, is range of preferably 30deg C~100deg C usually from room temperature .

【0018】

Above-mentioned general reaction scheme is not something which limits the synthetic method of compound of this invention , it is possible also to use other method of public knowledge with this field .

If in addition, means of peptide synthesis conventional means of liquid phase synthetic method , solid phase synthesis method or other peptide synthesis should have used, is produced for example Izumiya Nobuo other work, "fundamentals and experiment of peptide synthesis ", Maruzen KK , 1985 ;Yajima Haruaki, the Sakakibara Shunpei work, "Lectures in Biochemical Experiments 1 ", Japanese Biochemical Society compilation, Tokyo Kagaku Dojin , 1977 ;Kimura Toshiya work, "Continuation Lectures in Biochemical Experiments 1 ", Japanese Biochemical Society compilation, Tokyo Kagaku Dojin , 1987 ;Suzuki Nobuo work, "4 th edition Lectures in Experimental Chemistry 22organic synthesis IV ", method which is stated in the The Chemical Society of Japan compilation and Maruzen KK , 1992 etc or by method which corresponds to that.

【0019】

compound and its salt (Below, the compound of this invention there are times when it abbreviates. ) which are displayed with General Formula (I) of this invention , way with novel compound of unpublished , it shows in postscript Test Example , in order to possess PDFinhibiting activity and antibiotic activity which are superior, designate those as active ingredient , combining carrier etc of postscript in accordance with necessary it is useful due to especially, as PDFinhibitor and antibacterial .

【0020】

pharmaceutical which contains the compound of this invention is prescribed to generalized or the localized to warm blooded animal (Such as for example human , rat , mouse , rabbit , bovine , pig , dog , cat ).

Other than oral dosage , it is prescribed to generalized with intravenous injection , subcutaneous injection , intramuscular injection or other parenteral method.



局所的には皮膚、粘膜、鼻内、眼内などに投与される。

ヒトに経口的に投与される製剤としては、たとえば粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、シロップ剤および液剤などが挙げられる。

製剤が粉末、顆粒、錠剤などとして製造される場合、固形製剤を製造するのに好適な任意の製薬担体、たとえば賦形剤(澱粉、ブドウ糖、果糖、白糖など)、滑沢剤(ステアリン酸マグネシウムなど)、崩壊剤(澱粉、結晶セルロースなど)、結合剤(澱粉、アラビアゴムなど)などを用いることができ、コーティング剤(ゼラチン、白糖など)でコーティングされていてもよい。

また、製剤がシロップや液剤として製造される場合、たとえば安定剤(エデト酸ナトリウムなど)、懸濁化剤(アラビアゴム、カルメロースなど)、矯味剤(単シロップ、ブドウ糖など)、芳香剤などを適宜に選択して使用することができる。

非経口的に製造される製剤としては、注射剤、坐剤などが挙げられる。

製剤が注射剤として製造される場合、たとえば溶剤(注射用蒸留水など)、安定化剤(エデト酸ナトリウムなど)、等張化剤(塩化ナトリウム、グリセリン、マンニトールなど)、pH 調整剤(塩酸、クエン酸、水酸化ナトリウムなど)、懸濁化剤(メチルセルロースなど)を用いることができ、坐剤として製造される場合、たとえば坐剤基剤(カカオ脂、マクロゴールなど)などを適宜に選択して使用することができる。

外用製剤としては、たとえば軟膏、クリーム剤、ローション剤、点鼻剤および点眼剤などが挙げられる。

これら外用製剤には本発明化合物に加えて、たとえば軟膏基剤(ワセリン、ラノリンなど)、溶剤(生理食塩水、精製水など)、安定剤(エデト酸ナトリウム、クエン酸など)、湿潤剤(グリセリンなど)、乳化剤(ポリビニルピロリドンなど)、懸濁化剤(ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロースなど)、界面活性剤(ポリソルベート 80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油など)、保存剤(塩化ベンザルコニウム、パラベン類、クロロブタノールなど)、緩衝剤(ホウ酸、ホウ砂、酢酸ナトリウム、クエン酸緩衝剤、リン酸緩衝剤など)、等張化剤(塩化ナトリウム、グリセリン、マンニトールなど)、pH 調整剤(塩酸、水酸化ナトリウムなど)などの製薬学的添加剤、賦形剤、溶剤などを適宜に選択して使用することができる。

[0021]

Inside skin , mucosa , nose , it is prescribed to intraocular etc to localized .

You can list for example powder , granule , tablets , capsules , syrup and liquid etc as formulation which is prescribed to oral to human .

When formulation it is produced, as powder , granule , tablets etc medicinem manufacture carrier , for example vehicle of preferred option (Such as starch , fructose , fructose , sucrose ), lubricant (Such as magnesium stearate ), disintegrating agent (Such as starch , crystalline cellulose ), be able to use binder (Such as starch , gum arabic ) etc in order to produce solid preparation , coating it is possible to be done with coating agent (Such as gelatin , sucrose ).

In addition, when formulation it is produced, as syrup and liquid for example stabilizer (Such as sodium edetate ), suspending agent (Such as gum arabic , croscarmellose ), flavoring (Such as single syrup , fructose ), selecting fragrance etc appropriately, you can use.

You can list injectable , suppository etc as formulation which is produced in the parenteral .

When formulation when it is produced, as injectable for example solvent (Such as injectable distilled water ), the stabilizer (Such as sodium edetate ), isotonic agent (Such as sodium chloride , glycerin , mannitol ), pH adjustment agent (Such as hydrochloric acid , citric acid , sodium hydroxide ), be able to use suspending agent (Such as methylcellulose ), it is produced, as suppository selecting for example suppository base (Such as cacao butter , macrogol ) etc appropriately, you can use.

As external use formulation , you can list for example ointment , cream agent , lotion agent , nosedrop and ophthalmic solution etc.

In addition to the compound of this invention , for example ointment base (Such as vaseline , lanolin ), solvent (Such as physiological saline , purified water ), stabilizer (Such as sodium edetate , citric acid ), humectant (Such as glycerin ), emulsifier (Such as polyvinyl pyrrolidone ), suspending agent (Such as hydroxypropyl methylcellulose , methylcellulose ), surfactant (Such as polysorbate 80, polyoxyethylene hydrogenated castor oil ), preservative (benzalkonium chloride , paraben and such as chlorobutanol ), buffer (Such as boric acid , borax , sodium acetate , citric acid buffer , phosphate-buffered agent ), isotonic agent (Such as sodium chloride , glycerin , mannitol ), selecting pH adjustment agent (Such as hydrochloric acid , sodium hydroxide ) or other pharmacological additive , vehicle , solvent etc appropriately in these external use formulation you can use.

[0021]

本発明化合物の投与量は対象となる疾患、症状、投与対象、投与方法などにより異なるが、成人の感染症に使用する場合、1回あたりの投与量は、経口投与では通常 1~1000mg、好ましくは 10~200mg を 1 日 1~4 回、注射剤では通常 0.1~100mg、好ましくは 1~50mg を 1 日 1~4 回である。

また、成人の眼感染症に局所的に使用する場合は、通常本発明化合物を 0.001~1.0w/v%、好ましくは 0.01~0.5w/v% 含有する点眼液を、1 回 20~50  $\mu$ L、1 日 1~6 回点眼するのがよい。

#### 【0022】

本発明の製剤には、本発明の目的に反しない限り、その他の抗菌成分および/または別種の薬効成分を適宜含有させてもよい。

#### 【0023】

##### 【実施例】

本発明を以下の実施例、試験例および製剤例に従いさらに詳細に説明するが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。

#### 【0024】

実施例 N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン-L-ロイシノヒドロキサム酸

工程 1) L-バリン(47g, 400mmol)を 1M 水酸化ナトリウム水溶液 400mL に溶解し、さらに精製水 600mL を加え、氷冷下で攪拌しながら、4-フルオロベンゼンスルホニルクロリド(78g, 400mmol)のテトラヒドロフラン溶液 400mL と 1M 水酸化ナトリウム水溶液 400mL を同時に滴下した。

この溶液を室温で 18 時間攪拌した。

反応終了後、反応液を塩酸で pH3 に調整して酢酸エチルで抽出した。

有機層を 2N-塩酸、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。

溶媒を減圧留去して、残渣無色油状物をヘキサンから結晶化して、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン(77g, 70%)を得た。

#### 【0025】

工程 2) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン(67g, 240mmol)と N-ヒドロキシコハク酸イミド(36g, 320mmol)をテトラヒドロフラン 700mL に

As for dose of the compound of this invention when different, you use for infection of adult with disorder, disease, administration object, administration method etc which becomes object, dose of the per time with oral dosage usually 1 - 1000 mg, preferably 10~200mg with 1 day 1~4 times, injectable usually 0.1 - 100 mg, preferably 1~50mg is 1 day 1~4 times.

In addition, when you use for localized in eye infection of adult, it is good one time 20~50;  $\mu$ L, 1 day 1~6 time eyedrop to do eyedrop liquid which usually 0.001 - 1.0 w/v %, preferably 0.01~0.5w/v % contains the compound of this invention.

#### 【0022】

If, it does not oppose to objective of this invention in formulation of the this invention, it is possible to contain active ingredient of kinds of classified by other antimicrobial component and/or appropriately.

#### 【0023】

##### 【Working Example (s)】

Furthermore you explain in detail this invention in accordance with the Working Example, Test Example and Formulation Example below, but this invention is not something which is limited with these.

#### 【0024】

Working Example N- (4 -fluorophenyl sulfonyl) -L-valyl -L-[roishinohidorokisamu] acid

While melting step 1) L-valine (47 g, 400mmol) in 1 M sodium hydroxide water solution 400ml, agitating with under ice cooling furthermore including purified water 600ml, 4 -fluorobenzene sulfonyl chloride it dripped tetrahydrofuran solution 400ml and 1 M sodium hydroxide water solution 400ml of (78 g, 400mmol) simultaneously.

this solution 18 hours was agitated with room temperature.

After reaction termination, adjusting reaction mixture pH 3 with hydrochloric acid, it extracted with ethylacetate.

After washing organic layer with 2 N- hydrochloric acid, saturated saline, dehydration it did with anhydrous magnesium sulfate.

vacuum distillation doing solvent, crystallization doing residue colorless oil from hexane, N- (4 -fluorophenyl sulfonyl) -L-valine it acquired (77 g, 70%).

#### 【0025】

While step 2) N- (4 -fluorophenyl sulfonyl) -L-valine (67 g, 240mmol) with melting N- hydroxy succinimide (36 g, 320mmol) in tetrahydrofuran 700ml, agitating with under ice

溶解し、氷冷下で攪拌しながら、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(61 g, 320mmol)のジクロロメタン溶液を加えた。

この溶液を室温で 18 時間攪拌した。

反応終了後、溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチルに溶解し、2N-塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。

溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチル-ヘキサン混液(1:10v/v)で洗浄し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン N-ヒドロキシコハク酸イミドエステル(82g, 90%)を白色結晶として得た。

<sup>1</sup>H-NMR スペクトル(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.87 (d, 3H, J=6.9Hz), 0.90(d, 3H, J=6.9Hz), 2.03-2.14 (m, 1H), 2.77(s, 4H), 4.10-4.15(m, 1H), 7.33-7.40(m, 2H), 7.82-7.88(m, 2H), 8.66(d, 1H, J=9.0Hz).

【0026】

工程 3) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン N-ヒドロキシコハク酸イミドエステル(15g, 40mmol)と L-ロイシンエチルエステル塩酸塩(10 g, 52mmol)をジクロロメタン 150mL に溶解し、トリエチルアミン(12g, 120mmol)を加えた。

この溶液を室温で 18 時間攪拌した。

反応終了後、溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチルに溶解し、2N-塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。

溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチル-ヘキサン混液(1:1 v/v)で洗浄し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリン-L-ロイシンエチルエステル(14g, 83%)を白色結晶として得た。

融点; 110-111 deg C

<sup>1</sup>H-NMR スペクトル(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.68(d, 3H, J=6.1Hz), 0.79(d, 3H, J=6.7Hz), 0.80(d, 3H, J=6.1Hz), 0.85(d, 3H, J=6.7Hz), 1.11(t, 3H, J=7.1Hz), 1.19-1.33(m, 3H), 1.77-1.88(m, 1H), 3.52-3.57(m, 1H), 3.84-3.91(m, 1H), 3.95-4.05(m, 2H), 7.31-7.39(m, 2H), 7.75-7.82(m, 2H), 7.88(d, 1H, J=9.3Hz), 8.17(d, 1H, J=7.3Hz). Anal. Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S:C, 54.79; H, 7.01; N, 6.73. Found: C, 54.65; H, 7.15; N, 6.75.

cooling, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide acetate (61 g, 320mmol).

this solution 18 hours was agitated with room temperature.

After reaction termination, vacuum distillation it did solvent, melted residue in the ethylacetate, after washing with 2 N-hydrochloric acid, saturated aqueous sodium bicarbonate solution, saturated saline, dehydration it did with anhydrous magnesium sulfate.

vacuum distillation it did solvent, washed residue with ethylacetate-hexane mixed solution (1: 10 v/v), the N-(4-fluorophenyl sulfonyl)-L-valine N-hydroxy succinimide ester it acquired (82 g, 90%) as white crystal.

<sup>1</sup>H-nmr spectrum (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>); δ: 0.87 (d, 3H, J=6.9Hz), 0.90 (d, 3H, J=6.9Hz), 2.03 - 2.14 (m, 1H), 2.77 (s, 4H), 4.10 - 4.15 (m, 1H), 7.33 - 7.40 (m, 2H), 7.82 - 7.88 (m, 2H), 8.66 (d, 1H, J=9.0Hz).

[0026]

step 3) N-(4-fluorophenyl sulfonyl)-L-valine N-hydroxy succinimide ester (15 g, 40mmol) with L-leucine ethyl ester acetate (10 g, 52mmol) was melted in dichloromethane 150ml, the triethylamine (12 g, 120mmol) was added.

this solution 18 hours was agitated with room temperature.

After reaction termination, vacuum distillation it did solvent, melted residue in the ethylacetate, after washing with 2 N-hydrochloric acid, saturated aqueous sodium bicarbonate solution, saturated saline, dehydration it did with anhydrous magnesium sulfate.

vacuum distillation it did solvent, washed residue with ethylacetate-hexane mixed solution (1: 1 v/v), the N-(4-fluorophenyl sulfonyl)-L-valyl-L-leucine ethyl ester it acquired (14 g, 83%) as white crystal.

melting point; 110-111 deg C

<sup>1</sup>H-nmr spectrum (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>); δ: 0.68 (d, 3H, J=6.1Hz), 0.79 (d, 3H, J=6.7Hz), 0.80 (d, 3H, J=6.1Hz), 0.85 (d, 3H, J=6.7Hz), 1.11 (t, 3H, J=7.1Hz), 1.19 - 1.33 (m, 3H), 1.77 - 1.88 (m, 1H), 3.52 - 3.57 (m, 1H), 3.84 - 3.91 (m, 1H), 3.95 - 4.05 (m, 2H), 7.31 - 7.39 (m, 2H), 7.75 - 7.82 (m, 2H), 7.88 (d, 1H, J=9.3Hz), 8.17 (d, 1H, J=7.3Hz). Anal. Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S:C, 54.79; H, 7.01; N, 6.73. Found: C, 54.65; H, 7.15; N, 6.75.

1.88(m,1H), 3.52-3.57(m,1H), 3.84-3.91(m,1H), 3.95-4.05(m,2H), 7.31-7.39(m,2H), 7.75-7.82(m,2H), 7.88(d,1H,J=9.3Hz), 8.17(d,1H,J=7.3Hz).  
 Anal.Calcd for  $C_{19}H_{29}FN_2O_5S$ : C,54.79;H,7.01;N,6.73.Found: C,54.65;H,7.15;N,6.75.

## 【0027】

工程 4) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシンエチルエステル(12g,29mmol)をエタノール300mLに溶解し、水酸化ナトリウム(3.5g,86mmol)水溶液 200mLを加えた。

この溶液を氷冷下で5時間攪拌した。

反応終了後、反応液を塩酸でpH7に調整し、溶媒を減圧留去して酢酸エチルで抽出した。

有機層を2N-塩酸、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで脱水した。

溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチルから再結晶して N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシン(8.2g,73%)を白色結晶として得た。

融点;171-172 deg C

$^1\text{H-NMR}$  スペクトル(300MHz,DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.67(d,3H,J=6.1Hz), 0.78(d,3H,J=6.7Hz), 0.79(d,3H,J=6.1Hz), 0.84(d,3H,J=6.7Hz), 1.22-1.34(m,3H), 1.77-1.88(m,1H), 3.52-3.58(m,1H), 3.81-3.89(m,1H), 7.30-7.36(m,2H), 7.76-7.84(m,3H), 8.05(d,1H,J=7.6Hz), 12.44(s,1H).

Anal.Calcd for  $C_{17}H_{25}FN_2O_5S$ : C,52.57;H,6.48;N,7.21.Found: C,52.40;H,6.55;N,7.13.

## 【0028】

工程 5) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシン(0.50g,1.29mmol)、O-ベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩(0.62g,3.86mmol)、

## [0027]

step 4) N- (4 -fluorophenyl sulfonyl ) -L-valyl -L-leucine ethyl ester (12 g, 29mmol ) was melted in ethanol 300ml , sodium hydroxide (3.5 g, 86mmol ) aqueous solution 200ml was added.

this solution 5 hours was agitated with under ice cooling .

After reaction termination , you adjusted reaction mixture pH 7 with hydrochloric acid , the vacuum distillation did solvent and extracted with ethylacetate .

After washing organic layer with 2 N- hydrochloric acid , saturated saline , dehydration it did with anhydrous magnesium sulfate .

vacuum distillation it did solvent , recrystallization did residue from ethylacetate and N- (4 -fluorophenyl sulfonyl ) -L-valyl -L-leucine it acquired (8.2 g, 73% ) as white crystal .

melting point ;171-172deg C

$^1\text{H-nmr}$  spectrum (300 MHz , DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 0.67 (d, 3H, J=6.1Hz ) , 0.78 (d, 3H, J=6.7Hz ) , 0.79 (d, 3H, J=6.1Hz ) , 0.84 (d, 3H, J=6.7Hz ) , 1.22 - 1.34 (m, 3H ) , 1.77- 1.88 (m, 1H ) , 3.52 - 3.58 (m, 1H ) , 3.81 - 3.89 (m, 1H ) , 7.30 - 7.36 (m, 2H ) , 7.76 - 7.84(m, 3H ) , 8.05 (d, 1H, J=7.6Hz ) , 12.44 (s, 1H ) .

Anal.Calcd for  $C_{17}H_{25}FN_2O_5S$ : C,52.57;H, 6.48;N, 7.21.Found: C, 52.40;H, 6.55;N, 7.13.

## [0028]

step 5) N- (4 -fluorophenyl sulfonyl ) -L-valyl -L-leucine (0.50 g, 1.29mmol ) , O-benzyl hydroxylamine acetate (0.62 g, 3.86mmol ) , 1 -hydroxybenzotriazole (0.17 g, 1.29mmol ) and

1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(0.17g, 1.29mmol)および N-メチルモルホリン(0.65g, 6.44mmol)をジクロロメタン 20mL に溶解し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(0.32g, 1.67mmol)を加えて、室温で終夜撹拌した。

反応終了後、反応液にジクロロメタン 50mL と水 20mL を加えて分配した。

有機層を 1N-水酸化ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥した。

無機物を濾去した後、溶媒を減圧留去して、無色固形物を得た。

カラムクロマトグラフィー[Silica gel Merck-60(70-230 mesh), 酢酸エチル-ヘキサン混液(1:2 v/v)]で精製し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシノヒドロキサム酸ベンジルエステル(0.42g, 66.1%)を無色固形物として得た。

<sup>1</sup>H-NMR スペクトル(300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 0.67 (d, 3H, J=5.7Hz), 0.74-0.80(m, 9H), 1.05-1.20(m, 3H), 1.77(m, 1H), 3.56(m, 1H), 3.84(m, 1H), 4.70(s, 2H), 7.29-7.36(m, 7H), 7.77-7.81(m, 3H), 8.01(d, 1H, J=7.8Hz), 11.21(s, 1H).

【0029】

工程 6) N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシノヒドロキサム酸ベンジルエステル(0.40g, 0.81mmol)をテトラヒドロフラン 20mL に溶解し、10%パラジウム-炭素 0.04g を窒素雰囲気下で慎重に加えた。

水素気流下、室温常圧で水素の吸収が止まるまで撹拌した。

反応終了後、触媒を濾去し、溶媒を減圧留去した。

残渣に酢酸エチル 50mL を加えて、1N-水酸化ナトリウム水溶液で抽出した。

抽出液を 1N-塩酸で酸性とし、酢酸エチル 100mL で再度抽出した。

有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥した。

無機物を濾去した後、溶媒を減圧留去し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシノヒドロキサム酸(0.32g, 98.2%)を無色固形物として得た。

酢酸エチル 5mL から再結晶し、N-(4-フルオロフェニルスルホニル)-L-バリル-L-ロイシノヒドロキ

it melted the N- methylmorpholine (0.65 g, 6.44mmol ) in dichloromethane 20ml , overnight it agitated with room temperature 1 -ethyl -3- including (3 -dimethylaminopropyl ) carbodiimide acetate (0.32 g, 1.67mmol ).

After reaction termination , it distributed in reaction mixture including dichloromethane 50ml and water 20 ml .

After washing organic layer with 1 N- sodium hydroxide water solution , saturated saline , dehydration it dried with the anhydrous sodium sulfate .

After filtering inorganic substance , vacuum distillation doing solvent , it acquired the colorless solid .

It refined with column chromatography [Silicagel Merck-60 (70 - 230 mesh ) , ethylacetate -hexane mixed solution (1: 2 v/v ) ] , N- (4 -fluorophenyl sulfonyl ) -L-valyl -L- it acquired [roishinohidrokisamu ] acid benzyl ester (0.42 g, 66.1% ) as colorless solid .

<sup>1</sup>H-nmr spectrum (300 MHz , DMSO -d<sub>6</sub>) ; δ: 0.67 (d, 3H, J=5.7Hz ) , 0.74 - 0.80 (m, 9H ) , 1.05 - 1.20 (m, 3H ) , 1.77 (m, 1H ) , 3.56(m, 1H ) , 3.84 (m, 1H ) , 4.70 (s, 2H ) , 7.29 - 7.36 (m, 7H ) , 7.77 - 7.81 (m, 3H ) , 8.01 (d, 1H, J=7.8Hz ) , 11.21(s, 1H ) .

【0029】

step 6) N- (4 -fluorophenyl sulfonyl ) -L-valyl -L- [roishinohidrokisamu ] acid benzyl ester (0.40 g, 0.81mmol ) was melted in tetrahydrofuran 20ml , 10% palladium -carbon 0.04g was added prudently under nitrogen atmosphere .

Until under hydrogen stream , absorption of hydrogen stops with room temperature ambient pressure , it agitated.

After reaction termination , catalyst was filtered, solvent was done vacuum distillation .

In residue it extracted with 1 N- sodium hydroxide water solution including ethylacetate 50ml .

It designated extracted liquid as acidity with 1 N- hydrochloric acid , extracted for thesecond time with ethylacetate 100ml .

After washing organic layer with saturated saline , dehydration it dried with the anhydrous sodium sulfate .

After filtering inorganic substance , vacuum distillation it did solvent , N- (4 -fluorophenyl sulfonyl ) -L-valyl -L- it acquired [roishinohidrokisamu ] acid (0.32 g, 98.2% ) as colorless solid .

recrystallization it did from ethylacetate 5ml , N- (4 -fluorophenyl sulfonyl ) -L-valyl -L- it acquired

サム酸(化合物 1)を無色結晶として得た。

融点;142.2-142.9 deg C

<sup>1</sup>H-NMR スペクトル(300MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) δ:0.69 (d,3H,J=5.4Hz), 0.74-0.79(m,9H), 1.07-1.21(m, 3H), 1.76(m,1H), 3.55(m,1H), 3.89(m,1H), 7.2 9-7.35(m,2H), 7.73-7.81(m,3H), 7.95(d,1H,J=8. 4Hz), 8.80(s,1H), 10.59(br s,1H).

Anal.Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>F N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S:C,50.61;H,6.49;N, 10.41.Found:C,50.89;H, 6.58;N,10.40.

【0030】

#### 試験例 1

試験管内における大腸菌由来 Ni-PDF 阻害活性の測定を Lazennec らの方法(Lazennec, C. and Meinnel, T., Anal. Biochem., 244, 1997, 180-18 2.)に準じて行った。

なお、Ni-PDF の単離精製は、Chen らの方法(Chen, Dawn Z.; Patel, Dinesh V.; Hackbarth, Corinne J.; Wang, Wen; Dreyer, Geoffrey; Young, Dennis C.; Margolis, Peter S.; Wu, Charlotte; Ni, Zi-Jie; Trias, Joaquim; White, Richard J.; Yuan, Zhengyu, Biochemistry, 39, 2000, 1256-62.)に準じて行った。

50mM の N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸(HEPES, pH7.2)、10mM の塩化ナトリウム、0.2mg/mL の牛血清アルブミン(BSA)の緩衝溶液(90 μL)にジメチルスルホキシドに溶解した化合物 1(10 μL)と Ni-PDF(0.021 U/mg, 10 μL)を添加し、室温で 10 分間インキュベーションした。

そこに、0.021 U/mg のホルメートデヒドロゲナーゼ(FDH)、1mM の酸化型ベータニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(β-NAD<sup>+</sup>)0.6mM、0.1mM ホルミルメチオニンアラニンセリン(fMAS)の混合溶液(90 μL)を加え 20 分間反応させた後、340nm における吸光度減少の値(A)を測定した。

化合物 1 を含まない反応液と Ni-PDF を含まない反応液をそれぞれ同時に同じ条件下で測定した吸光度減少の値(B、C)を下記の式にあてはめ、種々の濃度における化合物 1 の阻害率(%)を算出した。

$$\text{阻害率}(\%) = \{1 - (A - C) / (B - C)\} \times 100$$

A: Ni-PDF および化合物 1 を含む反応液の 340

nm における吸光度減少の値

melting point ;142.2- 142.9deg C

<sup>1</sup>H-nmr spectrum (300 MHz , DMSO -d<sub>6</sub>) ;δ: 0.69 (d, 3H, J=5.4Hz ), 0.74 - 0.79 (m, 9H ), 1.07 - 1.21 (m, 3H ), 1.76 (m, 1H ), 3.55(m, 1H ), 3.89 (m, 1H ), 7.29 - 7.35 (m, 2H ), 7.73 - 7.81 (m, 3H ), 7.95 (d, 1H, J=8.4Hz ), 8.80 (s, 1H ), 10.59(brs, 1H ).

Anal.Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>F N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S:C, 50.61;H, 6.49;N, 10.41.Found:C, 50.89;H, 6.58;N, 10.40.

[0030]

#### Test Example 1

It measured E. coli derivative Ni -PDF inhibiting activity in vitro according to the method (Lazennec, C. and Meinnel, T., Analytical Biochemistry (0003 - 2697, ANBCA2 ), 2,441,997,180 - 182. ) of Lazennec and others.

Furthermore, it did isolation and purification of Ni -PDF, according to method (Chen , Dawn Z.; Patel, Dinesh V.; Hackbarth, Corinne J.; Wang , Wen; Dreyer, Geoffrey; Young , Dennis C.; Margolis, Peter S.; Wu, Charlotte; Ni , Zi-Jie; Trias, Joaquim; White , Richard J.; Yuan, Zhengyu, Biochemistry (0006 - 2960, BICHAW ), 39, 2000, 1256 - 62. ) of Chen and others.

N- (2 -hydroxyethyl ) piperazine -N' -2- ethane sulfonic acid of 50 mM (HEPES , pH 7.2 ), compound 1 which is melted in the dimethyl sulfoxide in buffer solution (90; μL ) of bovine serum albumin (BSA ) of sodium chloride , 0.2mg/ml of 10 mM (10; μL ) with added Ni -PDF (0.021 U/mg , 10; μL ), 10 min incubation did with room temperature .

There, formate dehydrogenase of 0.021 U/mg (FDH ), oxidative type beta nicotinamide adenine dinucleotide of 1 mM (β-NAD<sup>+</sup>) including mixed solution (90; μL ) of 0.6 mM , 0.1 mM formyl methionine alanine serine (fMAS ) 20 min reactions later, value (A ) of absorbance decrease in 340 nm was measured.

It applied value (B, C ) of absorbance decrease which each one measured reaction mixture which does not include compound 1 and reaction mixture which does not include Ni -PDF simultaneously under same condition to below-mentioned formula and set, it calculated inhibition ratio (%) of the compound 1 in various concentration .

$$\text{inhibition ratio}(\%) = \{1 - (A - C) / (B - C)\} \times 100$$

Value of absorbance decrease in 340 nm of reaction mixture

nmにおける吸光度減少の値

B:化合物 1 を含まない反応液の 340nm における吸光度減少の値

C:Ni-PDF を含まない反応液の 340nm における吸光度減少の値

さらに、サンプル中の化合物 1 の濃度との関係  
を対数グラフにプロットし、50%阻害に必要な量  
(IC<sub>50</sub>)を求めた。

【0031】

試験結果 1

その結果を表 1 に示す。

【0032】

【表 1】

which includes A: Ni -PDF and compound 1

Value of absorbance decrease in 340 nm of reaction mixture  
which does not include B: compound 1

Value of absorbance decrease in 340 nm of reaction mixture  
which does not include C: Ni -PDF

Furthermore, relationship with concentration of compound 1  
in sample the plot was designated as logarithm graph ,  
necessary quantity (IC <sub>50</sub> ) was sought from  
50%inhibition .

[0031]

test result 1

Result is shown in Table 1 .

[0032]

[Table 1 ]

被試験薬	IC <sub>50</sub> (μM)
化合物 1	0.857

【0033】

試験例 2

抗菌活性の測定を、日本化学療法学会の最小  
発育阻止濃度(MIC)測定法(Chemotherapy 198  
1,29 (1),76-79.)に準じて行った。

即ち、化合物 1 をそれぞれ 100、50、25、12.5、6.  
25、3.13、1.56、0.78、0.39、0.2、0.1、0.05 及び 0.  
0025 μg/mL となるように添加したミューラーヒン  
トン寒天平板培地 10mL に、10<sup>6</sup>または 10<sup>8</sup>CFU/  
mL に調製した被検菌液を接種し、約 37 deg C  
で 18~20 時間培養後、観察を行った。

なお、化合物 1 の溶解にはジメチルスルホキシ  
ドを使用した。

【0034】

試験結果 2

その結果を表 2 に示す。

[0033]

Test Example 2

It did measurement of antibiotic activity , according to  
minimum growth-inhibiting concentration (MIC )  
measurement method (Chemotherapy1981, 29 (1), 76 - 79. )  
of Japan Society of Chemotherapy .

Namely, compound 1 respectively 100, 50, 25 and 12. 5 and  
6. 25 and 3. 13 and 1. 56 and 0. 78 and 0. 39 and 0. 2 and 0. 1  
and 0. In order 0. 05 and to become 0.0025; μg/ml , in  
[myuuraahinton ] agar plate culture medium 10ml which  
is added, inoculation it did test microbe liquid which is  
manufactured in 10 <sup>6</sup> or 10 <sup>8</sup>  
CFU/ml , after 18 - 20 hours culture , observed  
with approximately 37 deg C.

Furthermore, dimethyl sulfoxide was used to melting  
compound 1.

[0034]

test result 2

Result is shown in Table 2 .

【0035】

[0035]

【表 2】

[Table 2]

菌株	菌数 (CFU/mL)	化合物 1 のMIC ( $\mu$ g/mL)
<i>S. aureus</i> <sup>a</sup>	10 <sup>8</sup>	>100
	10 <sup>6</sup>	>100
<i>E. coli</i> <sup>b</sup>	10 <sup>8</sup>	50
	10 <sup>6</sup>	50

a : *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

b : *Escherichia coli* (ATCC 8739).

【0036】

[0036]

	製剤例 1					
	Formulation Example 1					
化合物 1					100mg	
compound 1					100 mg	
乳糖					80mg	
lactose					80 mg	
デンプン					17mg	
starch					17 mg	
ステアリ	酸			ウ	3mg	
steer jp9	acid			[u]	3 mg	

形する。

Shape it does.

必要に応じて糖衣を付してもよい。

according to need sugar coat it is possible to attach.

【0037】

[0037]

製剤例 2 注射剤		
Formulation Example 2injectable		
化合物 1		100mg
compound 1		100 mg



塩化ナトリウム ..... sodium chloride		900mg ..... 900 mg
1N-水酸化ナトリウム ..... 1 N- sodium hydroxide		適量 ..... suitable amount
注射用蒸留水 ..... injectable distilled water		全量 100mL ..... total amount 100ml
以上の成分を常法により ..... component above in conventional method depending	混和し ..... It mixes	注射剤とする。 ..... It makes injectable .

【0038】

[0038]

製剤例 3 点眼剤

Formulation Example 3 points eye agent

化合物1 ..... compound 1			50mg ..... 50 mg
ホウ酸 ..... boric acid			700mg ..... 700 mg
ホウ砂 ..... borax			適量 ..... suitable amount
塩化ナトリウム ..... sodium chloride			500mg ..... 500 mg
ヒドロキシメチルセルロ ..... [hidorokishimechiruseruro ]	ース ..... [su ]		0. 5g ..... 0.5 g
エデト酸ナトリウム ..... sodium edetate			0. 05mg ..... 0.05 mg
塩化ベンザルコニウム ..... benzalkonium chloride			0. 005mg ..... 0.005 mg
滅菌精製水		全量 100mL	

sterile purified water		total amount 100ml	
以上の成分を常法によ	り	混和し	点眼剤とする。
component above in conventional method	*	It mixes	It makes ophthalmic solution .

【0039】

## 【発明の効果】

本発明の一般式(I)で表される化合物およびその塩は、優れた PDF 阻害作用および抗菌作用を有しているため、PDF 阻害剤および抗菌剤として用いることができる。

[0039]

## [Effects of the Invention ]

Because it has possessed PDFinhibition and antibacterial action which are superior,you can use compound and its salt which are displayed with General Formula (I ) of this invention , as PDFinhibitor and antibacterial .